转 *cry*1*Ab* 基因水稻对二化螟幼虫血细胞的影响

王世贵[1,2]，叶恭银[2]，胡　萃[2]

（1. 杭州师范学院，杭州市动物科学与技术重点实验室，杭州　310036；
2. 浙江大学应用昆虫学研究所，杭州　310029）

摘要：**研究了转 *cry*1*Ab* 基因水稻'克螟稻 1 号'对二化螟 *Chilo suppressalis* 幼虫细胞免疫系统的影响。结果表明，转 *cry*1*Ab* 基因水稻对二化螟幼虫的血细胞影响明显，取食转 *cry*1*Ab* 基因水稻后，二化螟幼虫各类血细胞都明显低于取食非转基因水稻'秀水 11'的对照组（原血细胞和囊血细胞在取食初期例外），随取食时间延长，各类血细胞数量及血细胞总数均呈递减的趋势。从各类血细胞所占血细胞总数的百分比来看，原血细胞在取食 36 h 后锐减，而浆血细胞和粒血细胞则比例增加，其余珠血细胞、囊血细胞的变化不明显。另外，血细胞还出现空泡化、肿胀等病态变化，致使血细胞快速破裂。由此推测转 *cry*1*Ab* 基因水稻自身表达的毒蛋白能严重干扰靶标昆虫二化螟幼虫的细胞免疫系统。**

关键词：**二化螟；转 *cry*1*Ab* 基因水稻；血细胞；免疫**

中图分类号：Q965　　文献标识码：A　　文章编号：0454-6296(2006)02-0200-06

The impacts of transgenic *cry*1*Ab* rice on the hemocytes of *Chilo suppressalis* larvae

WANG Shi-Gui[1,2], YE Gong-Yin[2], HU Cui[2] (1. Hangzhou Key Laboratory for Animal Science and Technology, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China; 2. Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: This paper deals with the impacts of transgenic rice line KMD1, containing a synthetic truncated toxin gene based on the *cry*1*Ab* gene of *Bacillus thuringiensis*, on the haemocytes of larvae of *Chilo suppressalis* (Walker). The results showed that transgenic *cry*1*Ab* rice affected the hemocytes of 5th instar larvae observably. When the larvae fed on the transgenic *cry*1*Ab* rice, the numbers of almost all types of hemocytes except the prohemocytes cystocytes at initial stage were distinctly lower than that of the CK fed on non-transgenic rice Xiushui 11. Because of transgenic *cry*1*Ab* rice destroyed all types of hemocytes more or less, the differential hemocyte count and total hemocyte count decreased as the feeding time extended. The percent of prohemocytes after feeding for 36 h reduced sharply, but the proportion of plasmatocytes and granular cells increased, and the numbers of the rest spherules and cystocytes did not change distinctly. The results suggested that the cellular immune system of larvae of *C*. *suppressalis* was disturbed severely after their feeding on transgenic *cry*1*Ab* rice.

Key words: *Chilo suppressalis*; transgenic rice; *cry*1*Ab* gene; hemocytes; immunity

在昆虫的细胞免疫中，颗粒血细胞和浆血细胞是进行吞噬作用的主要血细胞(Rowley and Ratcliffe, 1976; Ratcliffe *et al*., 1985; Vinson, 1990; Lavine and Strand, 2002)。当少量微生物（如细菌、病毒等）入侵时，常由浆血细胞进行吞噬；而当大量微生物入侵时，先由颗粒血细胞释放颗粒，将一些血细胞及大量细菌等卷入形成黑化团，进一步由浆血细胞形成多层的鞘围绕黑化核即形成结节。如果侵入物太大（如寄生虫卵），则只能由多种细胞围歼而形成囊状体，但这种包被作用与上述的结节不易区分，常被统称为包囊作用。

苏云金杆菌(Bt)作为一种昆虫病原细菌，当敏感昆虫感染后，其血淋巴也会产生一些免疫应答。Witting(1965)将活菌和热杀死 Bt 营养体注射至一点

基金项目：浙江省自然科学基金项目(300305)
作者简介：王世贵，男，1969 年 2 月生，博士，副教授，主要从事昆虫生理生化及生态学研究，E-mail：sgwang@mail.hz.zj.cn
收稿日期 Received：2005-04-28；接受日期 Accepted：2005-10-11

粘虫 *Pseudaletia unipuncta*（Haworth）幼虫血淋巴中观察到了血细胞的减少和恢复以及吞噬现象。Cheung 等（1978）把活的 Bt 营养体注射到美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea*（Boddie）3 龄幼虫血淋巴中也观察到了血细胞的吞噬作用，并比较了各种血细胞数量的变化。王亚洲等（1990）及沙槎云和谢强江（1992）也分别研究了苏云金杆菌对印度谷螟 *Plodia interpunctella*（Hübner）、粘虫 *Mythimna separata*（Walker）血细胞的影响。这些研究都表明敏感昆虫在感染苏云金杆菌后，血细胞的数量、种类组成及形态都出现了不同程度的变化，其影响是复杂多变的。而利用基因工程技术将苏云金杆菌的杀虫晶体蛋白基因导入植物基因组后获得的转 Bt 基因植物，其自身表达的毒蛋白是否同样会影响到靶标昆虫的免疫系统？这方面尚乏研究与定论。我们以转 *cry1Ab* 基因水稻为材料，研究了二化螟 *Chilo suppressalis* 幼虫取食转 *cry1Ab* 基因水稻后，其血细胞数量和种类组成等的动态变化，以探明转 *cry1Ab* 基因植物对靶标昆虫细胞免疫系统的影响，为进一步研究这种变化对害虫天敌（寄生蜂、细菌、病毒等）的影响提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

二化螟的采集和饲养同 Wang 等（2001）。

转 *cry1Ab* 基因水稻由浙江大学和加拿大渥太华大学合作培育，其亲本材料为粳稻品种秀水 11，双元载体为 PKUB，其 T-DNA 区内含有来自玉米强启动子 ubiquitin 驱动的 *cry1Ab* 基因，以及由启动子 CaMV35S 驱动的抗潮霉素（hygromycin）的 *hpt* 基因和抗卡那霉素的 *nptII* 基因以及 *gus* 基因。所用农癌杆菌菌株为 EHA105、MOG301 和 MOG101，通过农癌杆菌介导法将双元载体导入粳稻幼穗愈伤组织中，然后经过在含有不同浓度潮霉素的培养基上进行数次筛选，获得一批转 *cry1Ab* 基因水稻株系，通过专家组鉴定命名为‘克螟稻’（舒庆尧等，1998；项友斌等，1999）。本实验所用转 *cry1Ab* 基因水稻为‘克螟稻 1 号’，其亲本材料秀水 11 作为对照。

1.2 血细胞的计数

将克螟稻 1 号茎秆置于 2.5 cm × 12.5 cm 长试管中，基部用湿棉球保湿，以此为处理组供饲食料，用秀水 11 作为对照组供饲食料，每个试管各接入饥饿 2 h 的 5 龄初幼虫 4 头。在取食 4、8、12、24、36、48、60、72 和 84 h 后分别收集处理组和对照组幼虫血淋巴计数。取血时，用昆虫针刺破幼虫腹足，每头幼虫用微量移液器吸取 5 μL 血淋巴，每 10 头幼虫为 1 组，混匀血淋巴。处理组每次各取 2 组，对照组取 1 组。用 400 μL 生理盐水稀释 20 μL 血淋巴，加少量苯基硫脲防止黑化。按程惊秋（1987）的方法进行血细胞计数。

1.3 血细胞的形态观察

同上述方法分别收集取食转 *cry1Ab* 基因水稻不同时间的 5 龄初幼虫血淋巴，用瑞氏染液（0.1 g 瑞氏染料粉剂溶于 60 mL 纯甲醇）或 1% 中性红染色后置显微镜下观察拍照。用同样方法处理取食秀水 11 的 5 龄初幼虫血淋巴作为对照。

2 结果

2.1 血细胞数量的变化

二化螟 5 龄幼虫的血细胞共有 5 类，即原血胞（prohemocyte）、浆血细胞（plasmatocyte）、颗粒血细胞（granulocyte）、珠血细胞（spherulocyte）和囊血细胞（cystocyte）。取食转 *cry1Ab* 基因水稻后，二化螟 5 龄幼虫血细胞的动态变化见图 1。

从图 1 可以看出，转 *cry1Ab* 基因水稻对二化螟 5 龄幼虫的血细胞影响很大，取食后，各类血细胞基本上都低于对照组（原血细胞和囊血细胞在取食初期有增加），其中以浆血细胞下降最为明显。除原血细胞和囊血细胞在取食初期例外以外，各类血细胞数量及血细胞总数随取食时间延长而呈现递减的趋势。

从各类血细胞所占血细胞总数的百分比来看，原血细胞在取食 36 h 后锐减，而浆血细胞和颗粒血细胞比例则增加，其余珠血细胞、囊血细胞的变化不明显（图 2）。

2.2 血细胞的病态变化

二化螟取食转 *cry1Ab* 基因水稻后血淋巴中的血细胞与对照相比，出现以下明显的病态变化：

（1）原血细胞：正常的原血细胞为小圆形血细胞，边缘完整，轮廓清晰。细胞质稀薄，细胞核的比例较大（图 3：a）。处理后变化不大，是镜下未见被破坏的少数类型（图 3：b）。

（2）浆血细胞：正常的浆血细胞呈卵圆形，大小不一，数量较多，可见清晰完整的细胞核（图 3：c，d）。浆血细胞可进一步特化为足形细胞（图 3：f，g）。取食转 *cry1Ab* 基因水稻 24 h 后，浆血细胞开始肿胀（图 3：e），特化为足形细胞的数目明显少于对照组，且尾足呈刺状或短芒状（图 3：h，i）。取食转 *cry1Ab* 基因水稻 48 h 后，浆血细胞开始出现破裂，60 h 后破裂细胞增多。

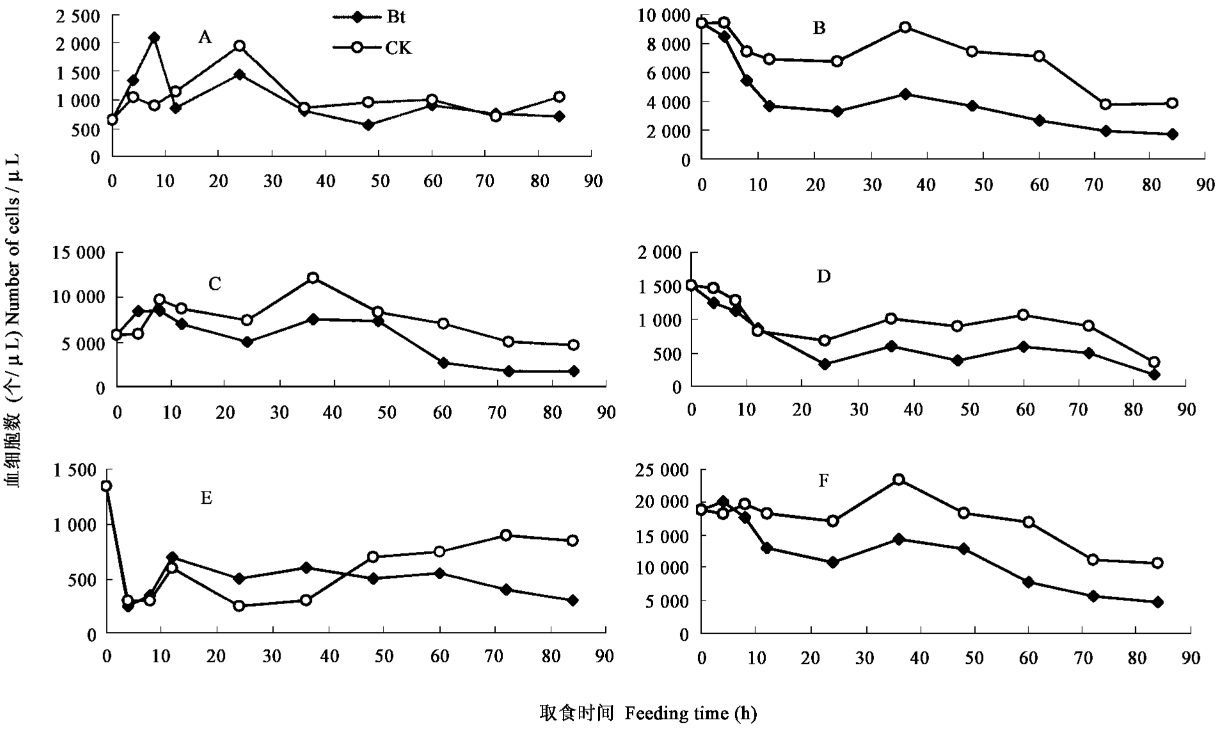

图1 二化螟5龄初幼虫取食转 *cry1Ab* 基因水稻后血细胞数量的动态变化

Fig. 1 Changes of hemocyte population in 5th instar larvae of *Chilo suppressalis* fed on Bt rice

A. **原血细胞** Prohemocytes；B. **浆血细胞** Plasmatocytes；C. **颗粒血细胞** Granulocytes；D. **珠血细胞** Spherulocytes；E. **囊血细胞** Cystocyte；F. **血细胞总数** Total hemocyte count.

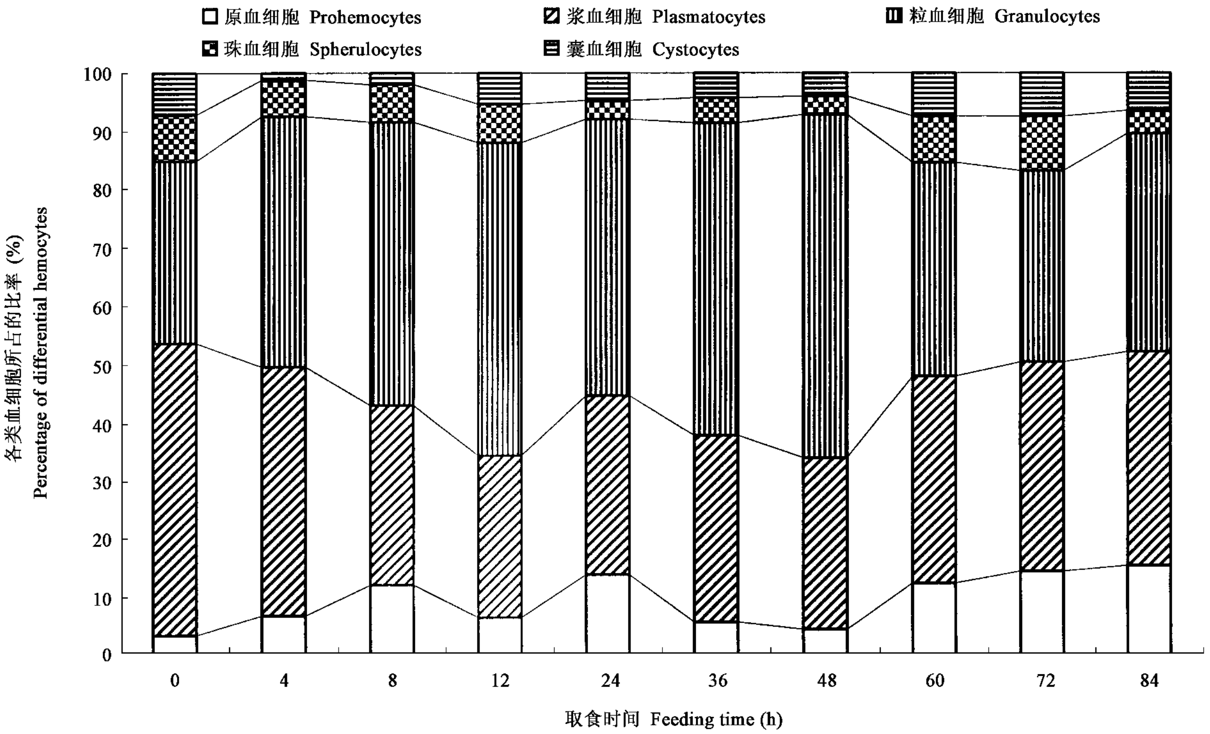

图2 二化螟取食转 *cry1Ab* 基因水稻后血细胞组成的动态变化

Fig. 2 Dynamics of percentage of differential hemocytes of 5th instar larvae of *Chilo suppressalis* fed on Bt rice

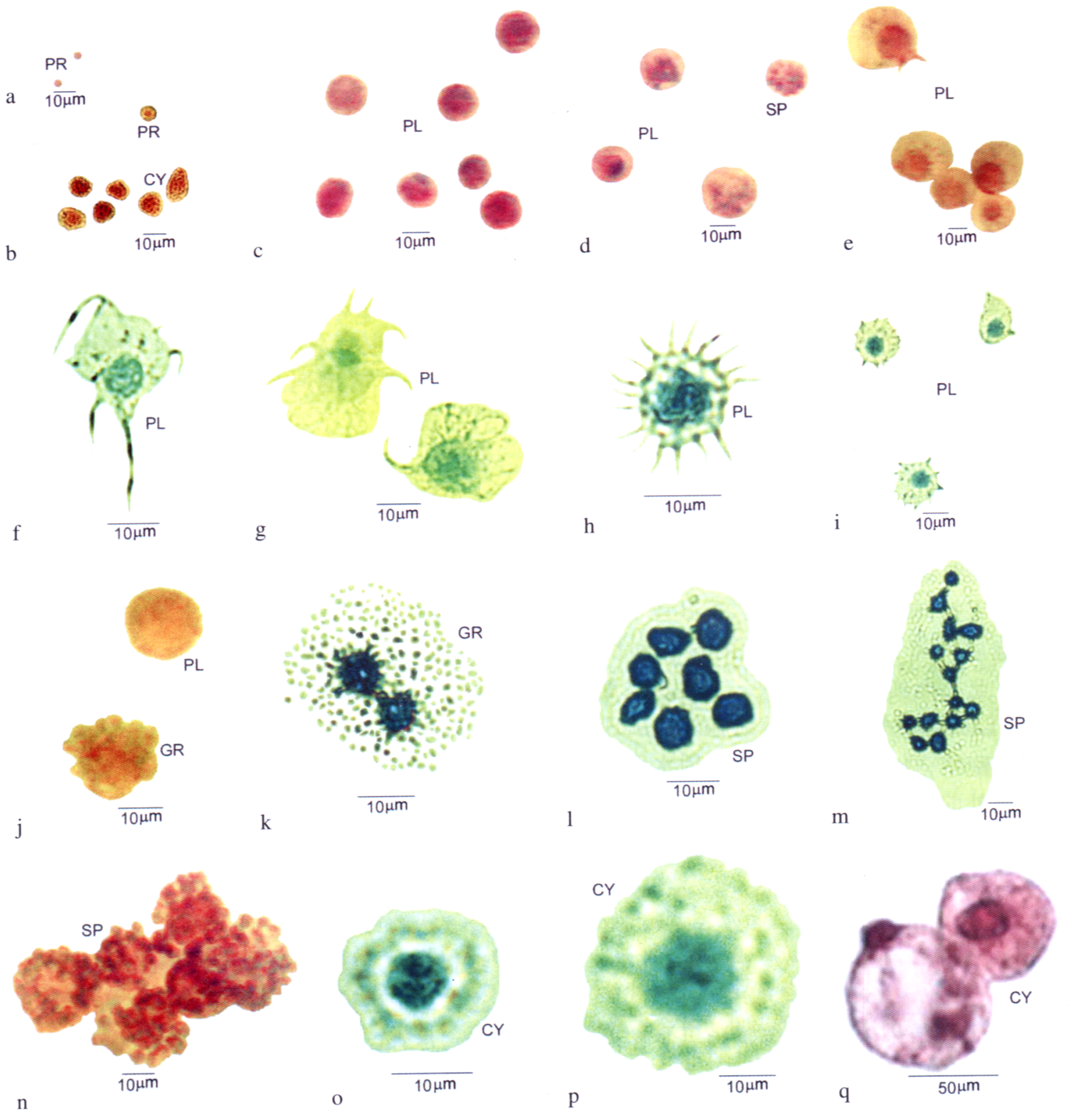

图 3　二化螟 5 龄初幼虫正常血细胞形态及取食转 *cry*1*Ab* 基因水稻后的病态变化

Fig. 3　The normal hemocytes and pathology changes in 5th instar larvae of *Chilo suppressalis* treated with transgenic Bt rice

a. 正常的原血细胞 Normal prohemocytes; b. 处理后的原血细胞和囊血细胞 Treated prohemocytes and cystocytes; c. 正常的浆血细胞 Normal plasmatocytes; d. 正常的浆血细胞和珠血细胞 Normal plasmatocytes and spherulocytes; e. 处理后的浆血细胞,示细胞肿胀 Treated plasmatocytes, showing swelling cell; f. 正常的浆血细胞,示丝状伪足 Normal plasmatocytes, showing filiform pseudopod; g. 正常的浆血细胞,示钩状伪足 Normal plasmatocytes, showing hamular pseudopod; h. 处理后的浆血细胞,示刺状伪足 Treated plasmatocytes, showing spinal pseudopod; i. 处理后的浆血细胞,示短芒状伪足 Treated plasmatocytes, showing aristate pseudopod; j. 正常的浆血细胞和颗粒血细胞 Normal plasmatocytes and granulocytes; k. 处理后破裂的颗粒血细胞 Ruptured granulocytes after treatment; l. 正常的珠血细胞,示珠粒 Normal spherulocytes, showing bead inclusion; m. 处理后破裂的珠血细胞,示珠粒散开 Ruptured spherulocytes after treatment, showing falloff of bead inclusion; n. 破裂的珠血细胞 Ruptured spherulocytes after treatment; o. 正常的囊血细胞 Normal cystocytes; p. 处理后的囊血细胞,示肿胀 Treated cystocytes, showing swelling cell; q. 处理后的囊血细胞,示细胞质空泡化、脱核现象 Treated cystocytes, showing vacuolated cytoplasm and doffed nucleus. PR: 原血细胞 Prohemocytes; CY: 囊血细胞 Cystocytes; PL: 浆血细胞 Plasmatocytes; SP: 珠血细胞 Spherulocytes; GR: 颗粒血细胞 Granulocytes.

（3）颗粒血细胞：正常的颗粒血细胞为球形或卵球形，大小不等，细胞内充满大小不等的颗粒并将核质覆盖（图 3：j）。相差显微镜下可看到刚离体时多为圆形或放射形，离体后易破裂，破裂后细胞内物质流出，颗粒大，圆且清晰。取食转 *cry1Ab* 基因水稻 24 h 后即出现上述变化（图 3：k），破裂数目增多，数目呈下降趋势。

（4）珠血细胞：正常的珠血细胞为大中型血细胞，特征明显，易于辨认，这类细胞由于细胞内大小不等的珠形内含物向外突出，形成花瓣状，在相差显微镜下观察立体感极强，颗粒外突极为明显清晰（图 3：d，l）。取食转 *cry1Ab* 基因水稻 48 h 后，细胞开始出现明显变化，向外突出的珠形内含物各自游离而使细胞解体（图 3：m）。60 h 后破裂细胞数目逐渐增多（图 3：n）。

（5）囊血细胞：正常囊血细胞为大型细胞，边缘轮廓清晰完整，细胞核明显可见，显微镜下观察细胞核及细胞质内可见具有折光性的粒状和块状物（图 3：o）。此类血细胞破裂较快。二化螟取食秀水 11 和转 *cry1Ab* 基因水稻 60 h 后细胞外均出现了一圈透明的细胞质，且取食转 *cry1Ab* 基因水稻的二化螟囊血细胞外的透明细胞质较取食秀水 11 的宽（图 3：o，p）。镜下还可观察到囊血细胞细胞质空泡化，核移向一边并脱出（图 3：q）。

3 讨论

已有的研究结果表明，当敏感昆虫感染苏云金杆菌后，其血细胞的数量、种类组成及形态都出现了不同程度的变化（Witting，1965；Cheung *et al*.，1978；王亚洲等，1990；沙槎云和谢强江，1992）。Cheung 等（1978）把活的 Bt 营养体注射到美洲棉铃虫 3 龄幼虫血淋巴中时，发现血细胞总数和颗粒血细胞数量注射感染后 4 h 达到最高点，其后明显下降，至感染后 16 h 时随幼虫死亡率达到最大而大部分血细胞已溶解掉，但珠血细胞抵抗力较强。本研究结果表明，二化螟幼虫在取食转 *cry1Ab* 基因水稻后，血淋巴的各类血细胞都明显低于对照组（原血细胞和囊血细胞在取食初期例外），而且随着取食时间延长，各类血细胞数量及血细胞总数均呈递减的趋势（图 1：A ~ F）。另一方面，二化螟幼虫取食转 *cry1Ab* 基因水稻后，血细胞出现空泡化、肿胀等病态变化，致使血细胞快速破裂，表明利用基因工程技术将苏云金杆菌的杀虫晶体蛋白基因导入植物基因组后获得的转 *cry1Ab* 基因水稻，其自身表达的毒蛋白对靶标害虫血细胞的影响与 Bt 制剂相似，同样会严重干扰二化螟幼虫的细胞免疫系统。

尽管在大多数情况下 Bt 制剂对天敌昆虫是没有影响或影响很小（Flexner *et al*.，1986；Croft，1990；Glare and O'Callaghan，2000），而且已有的实验结果也认为转 Bt 基因抗虫植物对天敌昆虫无明显不利影响（王世贵等，2001）。但也应该看到转 Bt 基因抗虫植物对天敌昆虫仍然有一定的负面影响，如寄生性昆虫特别是内寄生性昆虫将会因敏感寄主取食 Bt 植物后迅速死亡而无法在其体内完成发育（Schuler *et al*.，2004）；同时对寄生蜂的寄生行为也会产生影响，比如敏感寄主对 Bt 植物取食较少而使寄生蜂无法根据植物受损后的挥发物来搜寻寄主（Potting *et al*.，1999；Schuler *et al*.，1999，2003）或者寄生蜂为避免浪费而不愿产卵在 Bt 植物上的敏感寄主，从而造成田间寄生率偏低（Schuler *et al*.，2004）。二化螟绒茧蜂 *Cotesia chilonis* 是二化螟幼虫期的寄生性优势种天敌（杭三葆和林冠伦，1989），绒茧蜂寄生后，对二化螟幼虫的生理生化有一定影响，导致寄主血淋巴蛋白质浓度下降，血细胞数量虽成倍增加，但对蜂卵和蜂幼虫的包囊作用很弱，显示二化螟绒茧蜂对寄主的调节能力很强（杭三葆和陆自强，1991）。本研究结果显示，转 *cry1Ab* 基因水稻自身表达的毒蛋白能严重干扰靶标昆虫二化螟幼虫的细胞免疫系统，但这种干扰作用对如二化螟绒茧蜂这样的寄生性天敌是有利的抑或是有害的，尚待明确。尽管已有研究（姜永厚等，2004）表明，二化螟绒茧蜂寄生取食转 *cry1Ab* 基因水稻的二化螟时，其结茧率和寄生率均显著低于对照，对寄生蜂的大小也有一定影响，并推测可能与取食转 *cry1Ab* 基因水稻的部分二化螟幼虫不能完成生长发育而中毒死亡，体内的寄生蜂也随之死亡有关，但考虑到转 *cry1Ab* 基因水稻的亚致死作用对二化螟幼虫的生长和发育影响不显著（王世贵等，2003），在田间有避难所存在时，将保留一定数量的二化螟种群，从而使引入天敌的控制作用成为可能。因此，有必要做更多的研究来探讨转 *cry1Ab* 基因水稻对二化螟细胞免疫以及体液免疫的影响，特别是这种干扰作用将对二化螟天敌的寄生行为产生何种影响。

参考文献（References）

Cheng JQ，1987. Methods of observation and calculation of insect hemocytes. *Entomological Knowledge*，24：297 - 299.［程惊秋，1987. 昆虫血

细胞的观察和记数方法．昆虫知识，24：297－299]

Cheung PYK，Grula EA，Burton RL，1978. Hemolymph responses in *Heliothis zea* to inoculation with *Bacillus thuringiensis* or *Micrococcus lysodeikticus*. *J. Invert. Pathol.*，31：148－156.

Croft BA，1990. Arthropod Biological Control Agents and Pesticides. New York：Wiley. 1－723.

Flexner JL，Lighthart B，Croft BA，1986. The effects of microbial pesticides on non-target，beneficial arthropods. *Agric. Ecosys. Environ.*，16：203－254.

Glare TR，O'Callaghan M，2000. *Bacillus thuringiensis*：Biology，Ecology and Safety. Chichester：John Wiley and Sons. 1－350.

Hang SB，Lin GL，1989. Biology characteristics of *Apanteles chilonis*（Hym.：Braconidae），a parasite of *Chilo* sp.（Lep.：Pyralidae）. *Chinese J. Biol. Control*，5（1）：16－18. [**杭三葆，林冠伦**，1989. **二化螟绒茧蜂生物学特性的研究．生物防治通报**，5（1）：16－18]

Hang SB，Lu ZQ，1991. Physiological and biochemical change in hemolymph of *Chilo suppressalis* larvae parasitized by *Apanteles chilonis*. *Acta Entomol. Sin.*，34（4）：427－432. [**杭三葆，陆自强**，1991. **二化螟幼虫被二化螟绒茧蜂寄生后血淋巴的生理生化变化．昆虫学报**，34（4）：427－432]

Jiang YH，Fu Q，Cheng JA，Ye GY，Bai YY，Zhang ZT，2004. Effect of transgenic Bt rice on the biological characteristics of *Apanteles chilonis*（Munakata）（Hymenoptera：Braconidae）. *Acta Entomol. Sin.*，47（1）：124－129. [**姜永厚，傅强，程家安，叶恭银，白耀羽，张志涛**，2004. **转** Bt **基因水稻对二化螟绒茧蜂生物学特性的影响．昆虫学报**，47（1）：124－129]

Lavine MD，Strand MR，2002. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochem. Mol. Biol.*，32：1 295－1 309.

Potting RPJ，Poppy GM，Schuler TH，1999. The role of volatiles from cruciferous plants and pre-flight experience in the foraging behaviour of the specialist parasitoid *Cotesia plutellae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*，93：87－95.

Ratcliffe NA，Rowley AF，Fitzgerald SW，Rhodes CP，1985. Invertebrate immunity：basic concepts and recent advances. *Int. Rev. Cytol.*，97：183－350.

Rowley AF，Ratcliffe NA，1976. An ultrastructural study of the *in vitro* phagocytosis of *E. coli* by the hemocytes of *Calliphora erythrocephala*. *J. Ultrastruct. Res.*，55：193－202.

Schuler TH，Denholm I，Clark SJ，Stewart CN，Poppy GM，2004. Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae*（Hymenoptera：Bracondidae）in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth，*Plutella xylostella*（Lepidoptera：Plutellidae）. *J. Insect Physiol.*，50：435－443.

Schuler TH，Potting RPJ，Denholm I，Clark SJ，Clark AJ，Stewart CN，Poppy GM，2003. Tritrophic experiments with Bt plants，the diamondback moth（*Plutella xylostella*）and parasitoid *Cotesia plutellae*. *Transgenic Research*，12：351－361.

Schuler TH，Potting RPJ，Denholm I，Poppy GM，1999. Parasitoid behaviour and Bt plants. *Nature*，400：825－826.

Sha CY，Xie QJ，1992. Changes of hemocyte number，protein and esterase in hemolymph of *Mythimna separata*（Walker）infected with *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Entomological Knowledge*，29：215－217. [**沙槎云，谢强江**，1992. **感染苏云金杆菌粘虫血淋巴中血细胞数量、蛋白质和酯酶的变化．昆虫知识**，29：215－217]

Shu QY，Ye GY，Cui HR，Xiang YB，Gao MW，1998. Development of transgenic *Bacillus thuringiensis* rice resistant to rice stem borers and leaf folders. *Journal of Zhejiang Agricultural University*，24（6）：579－580. [**舒庆尧，叶恭银，崔海瑞，项友斌，高明尉**，1998. **转基因水稻'克螟稻'选育．浙江农业大学学报**，24（6）：579－580]

Vinson SB，1990. How parasitoids deal with the immune system of their host：an overview. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*，14：3－27.

Wang SG，Ye GY，Hu C，2001. The interactions of natural enemies and transgenic Bt plants. *Entomological Knowledge*，38（3）：161－168. [**王世贵，叶恭银，胡萃**，2001. **天敌与转** Bt **基因抗虫植物的协同控害作用．昆虫知识**，38（3）：161－168]

Wang SG，Ye GY，Hu C，Shu QY，Xia YW，Altosaar I，2001. Effects of transgenic Bt rice on the food consumption，growth and survival of *Chilo suppressalis* larvae. *Entomologia Sinica*，8（3）：218－226.

Wang SG，Ye GY，Hu C，Shu QY，2003. The lethal and sub-lethal effects of a *cry*1*Ab*-transformed rice line KMD1 on *Chilo suppressalis*（Walker）larvae. *Journal of Zhejiang University*（*Agric. & Life Sci.*），29（6）：639－643. [**王世贵，叶恭银，胡萃，舒庆尧**，2003. **转** *cry*1*Ab* **基因水稻对二化螟幼虫的致死和亚致死效应．浙江大学学报（农业与生命科学版）**，29（6）：639－643]

Wang YZ，Zhang LH，Huang CY，1990. Pathological modifications of hemocytes of Indian meal moth after infected by the *Bacillus thuringiensis*. *Entomological Knowledge*，27（1）：20－21. [**王亚洲，张履鸿，黄春艳**，1990. **感染苏云金杆菌后印度谷螟血细胞的病态变化．昆虫知识**，27（1）：20－21]

Witting G，1965. Phagocytosis by blood cells in healthy and diseased caterpillars. *J. Invert. Pathol.*，7：474－485.

Xiang YB，Liang ZQ，Gao MW，Shu QY，Ye GY，Cheng XY，Altosaar I，1999. Agrobacterium mediated transformation of insecticidal *Bacillus thuringiensis cryIA*（*b*）and *cryIA*（*c*）genes and their expression in rice. *Chinese Journal of Biotechnology*，15（4）：494－500. [**项友斌，梁竹青，高明尉，舒庆尧，叶恭银，成雄鹰**，Altosaar I，1999. **农杆菌介导的苏云金杆菌抗虫基因** *cryIA*（*b*）**和** *cryIA*（*c*）**在水稻中的遗传转化及蛋白表达．生物工程学报**，15（4）：494－500]

（责任编辑：黄玲巧）